



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA**

**Efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto acuoso de semillas de  
*Carica papaya* y *Cucurbita maxima* sobre *Ascaris lumbricoides***

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

Médico Cirujano

**AUTORA:**

Méndez Muñoz, Yuridia Yaneci (ORCID: 0000-0002-1508-6762)

**ASESORES:**

Dra. Goicochea Ríos, Evelyn del Socorro (ORCID: 0000-0001-9994-9184)

Mg. Polo Gamboa, Jaime Abelardo (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

Enfermedades infecciosas y transmisibles

**TRUJILLO – PERÚ**

**2020**

## **DEDICATORIA**

Este logro tan importante para mí,  
va dedicado a Dios, por ser mi fe y  
fuerza en todo momento  
en el camino a mi  
realización.

De manera muy especial a mis padres,  
que siempre fueron  
son y serán mi  
motor y motivo.

**MÉNDEZ MUÑOZ, YURIDIA YANECI**

## **AGRADECIMIENTO**

Debo agradecer de una manera muy especial, a la universidad Cesar Vallejo,  
que me acogió en sus aulas para llevar adelante este propósito,

Debo agradecer también a mis docentes autoridades  
de la Escuela de Medicina, que me condujeron  
por el camino correcto para  
alcanzar este logro.

A mis maestros que con sus sabias enseñanzas  
y con disciplina, me formaron  
como médico.

**MÉNDEZ MUÑOZ, YURIDIA YANECI**

## Índice de contenidos

Carátula.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice de contenidos.....	iv
Resumen.....	v
Abstract.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
III. METODOLOGÍA.....	10
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	10
3.2. Variables y Operacionalización.....	10
3.3. Población, muestra.....	10
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	11
3.5. Procedimientos.....	11
3.6. Método de análisis de datos.....	12
3.7. Aspectos éticos.....	12
IV. RESULTADOS.....	13
V. DISCUSIÓN.....	17
VI. CONCLUSIONES.....	20
VII. RECOMENDACIONES.....	21
REFERENCIAS.....	22
ANEXOS.....	27

## RESUMEN

El presente estudio de investigación persiguió determinar el efecto antihelmíntico in vitro del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* sobre huevos de *Ascaris lumbricoides*. Investigación de tipo aplicada con un diseño experimental, que tuvo como a la totalidad de huevos obtenidos de hembras grávidas de *Ascaris lumbricoides*. Dentro del procedimiento y se elaboró extracto acuoso de ambas semillas mediante el método de decocción a concentraciones de 168 mg/ml de *Cucurbita maxima* y 183 mg/ml para *Carica Papaya*. Se preparó el inóculo con huevos extraídos de las hembras grávidas de *Ascaris lumbricoides*, finalmente se realizó la prueba de inhibición de eclosión oval de *Ascaris lumbricoides*, por medio del método eht. Dando como resultado que la *Cucurbita maxima* posee efecto antihelmíntico en un 69.1% y la *Carica papaya* en un 53,7 %, además que ello se demostró que ambos concentrados inhibieron la eclosión de huevos en el día 21, por lo que se demostró el efecto aceptando la hipótesis de investigación.

**Palabras claves:** Extracto acuoso, *Carica papaya*, *Cucurbita maxima*, *Ascaris lumbricoides*.

## ABSTRACT

The present research study sought to determine the in vitro anthelmintic effect of the aqueous extract of *Carica papaya* and *Cucurbita maxima* seeds on *Ascaris lumbricoides* eggs. Applied research with an experimental design, which had as a totality of eggs obtained from gravid females of both seeds was made by the decoction method at concentrations of 168 mg/ml for *Cucurbita maxima* and 183 mg/ml for *Carica Papaya*. The inoculum was prepared with eggs extracted from the gravid females of *Ascaris lumbricoides* was performed, by means of the eht method. As a result, *Cucurbita maxima* has an anthelmintic effect in 69,1 % and *Carica papaya* in 53.7 %, in addition, it was shown that both concentrates inhibited the hatching of eggs on day 21, so the effect was demonstrated. Accepting the research hypothesis.

**Keywords:** Aqueous extract, *Carica papaya*, *Cucurbita maxima*, *Ascaris Lumbricoides*.

## **I. INTRODUCCIÓN**

Las infecciones producidas por helmintos son afecciones de impacto global, cifras actuales registran infecciones endémicas en 102 países con determinantes de carácter social, como el bajo nivel instructivo educacional, un limitado acceso a los servicios de salud, mala coordinación entre gobiernos y determinantes económicos como la pobreza, viviendas precarias, ausencia de servicios básicos saneamiento y agua potable. Dentro de la población mundial alrededor del 24% ha tenido al menos una infección por helmintos a lo largo de su vida, dentro de la población vulnerable se hallan los preescolares, escolares y mujeres en etapa fértil por encontrarse en etapa de crecimiento y en mayor demanda de nutrientes.<sup>1</sup>

La morbilidad es directamente proporcional a la cantidad de helmintos que el paciente pueda albergar, la sintomatología en seres humanos se asocia a un descenso del apetito, diarrea aguda o crónica entre sus síntomas más comunes. Asimismo, en su forma crónica produce un déficit nutricional provocado por una alteración de la absorción intestinal, crecimiento con alteraciones, anemia ferropénica, trastornos en el aprendizaje y déficit de concentración, en su forma más grave ocasiona obstrucción intestinal cuyo cuadro amerita tratamiento quirúrgico.<sup>2</sup>

El uso de la medicina tradicional es una práctica muy antigua desde el siglo XI con la aparición de alquimistas, curanderos y boticarios quienes tenían experiencia en la preparación de brebajes a partir de plantas que ellos consideraban medicinales con las cuales aliviaban algunas enfermedades, tiempo después en el siglo XIX surgen los tratados botánicos que contenían las especies colectadas en América las mismas que están íntimamente ligada con el cuidado de la salud de una manera holística, teniendo gran significancia el lugar o región donde se cultiva la planta, resalta su gran importancia desde el principio de las civilizaciones y su gran aporte en la elaboración de fármacos sintéticos a partir de principios activos del vegetal. La mayor parte de estos principios activos se encuentran en sus metabolitos con composiciones complejas de distribución restringida, que a su vez están

conformados por: lípidos insaponificables, terpenos, líganos, entre otros, estos se encuentran distribuidos en toda la planta o en sus diversas partes, además para que una planta garantice propiedades medicinales son importantes los factores climáticos, características del suelo, época de la cosecha, edad de la planta así como el técnica de extracción de principios activos.<sup>3</sup>

El tratamiento farmacológico comúnmente usado contra la Ascariasis en la práctica médica es el carbamato benzoimidazólico o llamado Albendazol, actualmente se ha generado resistencia helmíntica a este tratamiento, generando un problema social aún más agudo, razón por la cual se busca en la medicina tradicional generar nuevas alternativas terapéuticas frente a la Ascariasis. Existen diversas especies de plantas que poseen propiedades medicinales a nivel mundial, entre ellas la *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* con gran cantidad de estudios experimentales que indican su utilización como tratamiento alternativo en parasitosis y algunos estudios que reportan a dichas plantas como tratamiento alternativo contra *Ascaris summ*, mas no se registran estudios de ambas semillas para helmintiasis por *Ascaris lumbricoides*.<sup>4</sup>

Tomando en cuenta ésta realidad, se planteó el siguiente problema de investigación ¿Cuál es el efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* sobre *Ascaris lumbricoides*?

Este proyecto de investigación realizó un estudio actual acerca del efecto antihelmíntico de dichas semillas, aporte académico que establezca bases nacionales y regionales del tratamiento alternativo contra helmintos y de ésta manera contribuir a la disminución de la tasa de infecciones intestinales por helmintos mediante el uso de la medicina complementaria, que podría ser aplicada en zonas rurales vulnerables por factores como la pobreza y el nivel bajo instructivo educacional donde la medicina complementaria es una buena alternativa.



Se tuvo como objetivo general determinar el efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* sobre huevos de *Ascaris lumbricoides* y como objetivos específicos: identificar la actividad antihelmíntica *in vitro* del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* en la inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides*, asimismo identificar la actividad antihelmíntica *in vitro* de la *Cucurbita maxima* en la inhibición de la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides*. La hipótesis de investigación fue: Los extractos acuosos de semillas de *Cucurbita maxima* y *Carica papaya* poseen efecto antihelmíntico *in vitro* sobre *Ascaris lumbricoides*.

## II. MARCO TEÓRICO

Azis A et al <sup>5</sup> (Egipto 2018) efectuaron un estudio para precisar el efecto helminticida del concentrado etanólico de distintas variedades de semillas de *cucurbita*. Para lo cual llevaron a cabo un estudio con *Ascaridia galli* en un ensayo experimental *in vivo* e *in vitro*, donde se emplearon concentrados de 75, 50 y 25 mg/ml, concluyendo en que todos los extractos en su totalidad demostraron un efecto comparativo al fenbendazol.

Jaworska A et al <sup>6</sup> (Polonia 2016) estudiaron *in vitro*, el efecto helminticida del concentrado acuoso y etanólico de *Cucurbita pepo*, la investigación usó dos nematodos para sus ensayos en medida de mil a cinco microgramos por mililitro de concentrado de semillas de *Cucurbita*, concluyéndose en que, en su totalidad los concentrados de semillas de *Cucurbita* evidenciaron acción antihelmíntica. Asimismo, obtuvieron que dicha actividad era proporcional al dosificado de concentrado etanólico.

Thavasi A et al <sup>7</sup> (India 2016) analizaron la eficacia antihelmíntica del concentrado acuoso y etanólico de gramíneas de *Cucurbita pepo*, para realizar dicha experimentación se estimó usar nemátodos intestinales, la

acción helminticida se evaluó por medio de la eclosión oval, llegando a la conclusión que hubo una resaltante inhibición de eclosión oval por parte de *Cucurbita pepo* a medidas de ochenta y cuarenta miligramos por mililitro.

Marroquín M et al <sup>8</sup> (México 2017) tuvieron como objetivo estudiar *in vitro* los concentrados hidroalcólicos y etanólicos de *Carica papaya* para valorar su acción antiparasitaria *in vitro* en *Haemonchus contortus*, elaboraron extractos mediante método de maceración en solvente, los huevos y larvas fueron previamente tratados con concentrado hidroalcohólico y etanólico de gramíneas a una concentración de 2.5 hasta 7.5 mg por ml, 90% de etanol y agua destilada. Los resultados obtenidos mostraron que el concentrado gramíneo etanólico presenta un 92% de acción inhibidora de eclosión oval mientras que el extracto hidroalcohólico mostró 50 % en relación al efecto sobre los explantes, por lo que se concluyó que el concentrado etanólico tiene acción en los huevos de *Haemonchus contortus* a diferencia del concentrado hidroalcohólico que inhibe la asociación de larvas al tejido abomasal.

Gómez N <sup>9</sup> (Colombia 2015) evaluaron *Aedes aegypti* estadio IV y el concentrado etanólico de semillas de *Carica papaya* como larvicida, se realizó un estudio experimental con estos resultados: la mortalidad de *Aedes* fue en 50, 100, 250, 500, 750 ppm, en un espacio de 2 días fue de 46, 87, 95 y 99 %. Se hallaron tiempos letales de 10 a 12 h, de donde se deduce que el tiempo letal es inversamente proporcional a la concentración. Así se concluyó mediante el ANOVA que el grado de las concentraciones tienen efecto directo en *Aedes aegypti*, finalmente concluyeron que existe acción larvicida en *Carica papaya* por encima de las 100 ppm.

Ávila M et al <sup>10</sup> (Ecuador 2011) evaluaron la actividad helminticida de las semillas de *Curcubita maxima*. En el estudio fitoquímico se obtuvo un extracto puro al 99,9% a partir del cual se obtuvo solución precursora al 15.38% treinta y posteriormente se prepararon soluciones al 1.5, 3.7, 4.6, 6.1, 11.5% para controles se utilizó piperazina y agua destilada.

Los grupos de estudio fueron 9, constituido con 10 *Eisenia foetida* helmintos cada uno, se buscó hallar la toxicidad y dosis letal media usando el método de Artemia salina, se comprobó que existe actividad helminticida del concentrado de semillas de *Carica papaya* al 15.38 y 11.53 de forma similar a los controles positivo.

Bejarano Y <sup>11</sup> (Perú 2019) analizaron la acción antiparasitaria in vitro de *Inga edulis* y *Cucurbita maxima* como concentrado acuoso de gramíneas frente a *Ascaris suum*, este estudio consideró 8 repeticiones en su esquema, mediante el método de decocción se obtuvo el decocto a 400 mg/ml de cada semilla. A través de la prueba de eclosión oval buscaron evidenciar la acción parasitaria del extracto. Los resultados arrojaron que *Curcubita* tuvo mayor efectividad que *Inga Edulis* frente a *Ascaris suum* con porcentajes de 88% y 79,83% respectivamente.

Coico M et al <sup>12</sup> (Perú 2018) evaluaron el efecto bactericida de *Cucurbita moschata* Duch como concentrado etanólico sobre *Shigella* sp., *Vibrio cholerae*, *E. coli*. De la misma manera se evaluó en este estudio in vitro la acción helminticida frente a *Syphacia obvelata* (oxiuros) e *Hymenolepis nana* var. *fraterna*. Mediante discos de infusión midieron la actividad bacteriana a razones del 100, 75, 50 y 25% del concentrado etanólico, y para medir el efecto helminticida se inocularon parásitos en *Mus musculus* quienes luego fueron inyectados con concentrado acuoso, como resultados hallaron que no tiene acción antibacteriana, pero tiene acción helminticida muy eficaz.

Castilla C <sup>13</sup> (Perú 2016) evaluaron la eficacia antimicrobiana del concentrado etanólico y etéreo de las hojas secas y pulverizadas de *Carica pubescens* contra bacterias intestinales Gram negativas. Para medir la acción bactericida agenciaron el método de difusión para ello usaron agar de *Triptosa-smnijuhoya*, lo cual permitió medir el efecto antimicrobiano frente a estas bacterias en condiciones de laboratorio. Los resultados obtenidos mostraron que ambos concentrados ejercen acción bactericida contra *Salmonella typhi* en una concentración mínima inhibitoria de 80 y 50 mg/ml respectivamente,

asimismo el extracto etanólico tuvo acción bactericida contra *Staphylococcus aureus*.

Abarca D et al <sup>14</sup> (Perú 2014) realizó un estudio transversal en el cuál se identificaron que parásitos afectan en etapa escolar y con qué frecuencia ocurre, se valoró el efecto antihelmíntico de *Chenopodium ambrosioides* y *Curcubita maxima* y se tomó una población de 201 niños de nivel primario de entre 7 a 10 años. Demostraron que *Chenopodium ambrosioides* presentó un efecto antiparasitario del 70% contra *Ascaris lumbricoides* y para *Giardia lamblia* ejerció una resistencia del 30 %, adicionalmente *Cucurbita maxima* tuvo acción en un 80% para *Ascaris lumbricoides* y una resistencia de 20% para *Giardia lamblia*.

Dentro de las enfermedades que más atacan países tercermundistas se encuentran las afecciones gastrointestinales como enfermedades diarreicas agudas y parasitosis. Las parasitosis a nivel intestinal arrojan tasas altas de prevalencia con una gran disposición en todo el mundo con factor de riesgo demográfico los países tropicales y de estaciones cálidas; siendo así que alrededor de 800 millones de personas se encontraron infectas por *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostomoídeos*, *Trichuris trichiura* con 600 millones de personas y 50 millones de personas infectas por *Entamoeba histolytica*. <sup>11</sup>

Como se conoce el índice de mortalidad por parasitosis a nivel mundial es bajo comparado con otras causas de muerte, pero es latente, así que cada año se reporta desde 65000 muertes por helmintos y 100000 personas muertas por infecciones de amebiasis, la nación no escapa de esta realidad ni los países subdesarrollados, la población más afectada son los niños en etapa escolar, los factores que predisponen la aparición de estos parásitos tiene como origen carencia de adecuadas medidas sanitarias, la ausencia de alcantarillado y el desemboque inadecuado de los desagües con aguas contaminadas, los malos hábitos higiénicos y el problema de aglomeración de personas que habitan en una vivienda. <sup>11</sup>

La incidencia del parasitismo intestinal vulnera la salud produciendo alteraciones en el aprendizaje y deteriorando funciones a nivel cognitivo, deteriora el desarrollo normal de los niños y su crecimiento. La parasitosis infantil comúnmente reportada en países subdesarrollados con altas cifras de pobreza está enteramente ligada con la desnutrición, causa defectos neurofisiológicos en la sinapsis cerebral, de esta manera afecta al sistema nervioso central limitando la actividad cerebral, deteriorándola y limitando la función hipotalámica.<sup>12</sup>

Tal realidad llevó a tomar interés por el uso de plantas medicinales ya que un gran porcentaje de la población las utiliza para poder tratar el parasitismo, de esta manera la Organización Mundial y Panamericana de la Salud reconocen que el 80% de los habitantes de la tierra usan plantas con propiedades terapéuticas para manejar las enfermedades más comunes. Siendo el Perú uno de los países con más tradición en el uso de plantas medicinales.<sup>12</sup>

*Curcubita maxima* se encuentra dentro de las plantas tropicales, con hasta 130 géneros y hasta 1300 especies, dentro de las cuales solo cinco especies fueron domesticadas por los primeros indígenas. La principal propiedad de las semillas es ser helminticida, que es la acción que ejerce sobre un huevo o larva para inhibirlo, combatirlo o eliminarlo y así evitar su propagación a través de la eclosión de huevos, cuyas propiedades son directamente proporcionales a la dosis y el momento en el que sea empleada la sustancia que según estudios afirman que es la fitoesterolina.<sup>13</sup>

*Carica papaya*, planta tropical que pertenece a la familia *Caricaceae*, presuntamente natural Perú, aunque existe información que afirma que su origen fue en América central. *Carica papaya* contienen múltiples nutrientes, vitaminas A y C, sales minerales como el potasio, entre otros. La papaya es utilizada comúnmente como helminticida y antidiarreico por las propiedades de sus semillas. El *isotiocianato de bencilo* es el compuesto que se ha hallado en las semillas, responsable de la acción helminticida, el factor demográfico es muy importante para que *Carica* tenga propiedades terapéuticas, se

consideran con mayor aporte medicinal aquellas que son cultivadas en suelo húmedo. <sup>14</sup>

La parasitosis es un efecto simbiótico establecido entre dos organismos diferentes, el huésped y el parásito, este puede permanecer todo su ciclo dentro del huésped o puede ser usado como su hábitat temporal, dentro tiene la función de autorregular sus funciones para su supervivencia, su alimentación, para la cual usará los nutrientes del hospedero o sus tejidos, además a medida que vaya creciendo será causará más alteraciones dentro del huésped como obstrucciones y anemias por alterar la absorción intestinal de nutrientes. <sup>15</sup>

*Ascaris lumbricoides* también conocida como una lombriz de localización intestinal, posee una forma cilíndrica y un aplanamiento a los extremos. Dentro de su sexualidad esta la hembra que puede medir hasta 35 cm de largo y hasta 6 mm de ancho, es recta y produce hasta 200000 huevos diariamente por otro lado el macho que mide hasta 31 cm de largo y hasta 4 mm de ancho, presenta dos espículas retráctiles que usa para su copulación, su tiempo de vida media es de un año, luego mueren y empiezan a ser eliminados naturalmente del hospedero. Suelen ser de color blanco o rosado. Los huevos que son viables presentan forma oval, son de 6 micras y están compuestos por 3 membranas, dos internas y una externa, maduran en un lapso de 5 semanas y adquieren su forma adulta en dos meses aproximadamente, donde ya se encuentran listos para infectar al hospedero. <sup>15</sup>

*Ascaris* es uno de los nemátodos con tres fases de desarrollo, adulto, larva y huevos. Transmitiéndose por medio de huevos, siendo esta la manera en que causan infección, en su mayoría la infestación se produce por consumir alimentos contaminados o agua que no es potable. Después de su maduración se produce la eclosión de los huevos en la luz intestinal, para luego emigrar a otros tejidos como el del hígado, pulmones, páncreas y corazón donde cumplen su proceso de evolución infectando y alterando las funciones normales de estos órganos.<sup>19</sup>

Para su nutrición aprovechan los alimentos que consume la persona infectada, lo que provoca que los nutrientes no se absorban en el intestino, llegando a ocasionar desnutrición y anemia por déficit de nutrientes principalmente en los niños, muchas veces estos parásitos no llegan a desarrollar su ciclo evolutivo completo dentro del huésped, pues mueren antes de ello, pero para asegurar su supervivencia producen huevos que el huésped expulsa por las heces y luego por una crisis sanitaria infectan a otros huéspedes. Su desarrollo es lento comparado con otros parásitos, por ello la aparición de síntomas es lento y de forma crónica. <sup>19</sup>

Egg Hatch Test; la capacidad de detectar de manera confiable la inhibición de la eclosión es una parte crucial del manejo de la resistencia. Dado que la prueba de eclosión del huevo según estándares Egg Hatch Test y colaboradores, se considera que existe inhibición de la eclosión cuando el porcentaje de inhibición es mayor a 50%, el cual fue tomado como indicador para el presente estudio. <sup>22</sup>

Ante la problemática que genera la helmintiasis, deberían crearse diversas alternativas para controlar y prevenir el daño general que producen estos patógenos. El esquema de tratamiento actual que insta de pruebas coprológicas previas echa de mano de la terapéutica oriental, la medicina convencional occidental y la herbolaria, para así poder combatir de una u otra manera estas afecciones que deterioran la función inmunitaria. <sup>19</sup>

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1. Tipo y diseño de investigación:

Tipo de estudio: aplicada

Diseño de investigación: Experimental con repeticiones múltiples.

RG <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>
RG <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>

Dónde:

RG: Grupo aleatorio de huevos de *Ascaris lumbricoides*.

X<sub>1</sub>: Extracto acuoso de gramíneas de *Carica papaya*.

X<sub>2</sub>: Extracto acuoso de gramíneas de *Cucurbita maxima*.

O: Efecto producido (resultado del tratamiento)

#### 3.2 Variables y Operacionalización:

V. Dependiente:

✓ Efecto antihelmíntico sobre huevos de *Ascaris lumbricoides*

V. Independiente:

✓ Extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima*.

Operacionalización de las variables: se muestra en anexos.

#### 3.3. Población, muestra:

Población:

La totalidad de huevos obtenidos de hembras grávidas de *Ascaris lumbricoides*. Considerando como criterio de inclusión a huevos fertilizados que no tuvieron contacto previo alguno con sustancias



antiparasitarias, y como criterio excluyente a huevos eclosionados o no viables.

#### Muestra:

Este trabajo experimental empleó un cálculo estadístico para hallar el mínimo número necesario de repeticiones que ratifiquen el estudio. (Anexo 2)

Reemplazando la ecuación obtuvimos un número de 9; por lo que, en la presente investigación se realizará 9 ensayos para cada grupo de estudio.

#### Unidad de análisis:

Estuvo conformada por cada huevo de *Ascaris lumbricoides* sometido al efecto del concentrado acuoso de gramíneas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima*.

### **3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.**

Técnica: se aplicó observación directa del efecto ejercido por los concentrados acuosos de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima*.

Instrumento: Se empleó una ficha elaborada donde fueron recolectados los datos adquiridos, para registrar el porcentaje en que se produce la eclosión de huevos para cada grupo de estudio.

### **3.5. Procedimiento:**

Para la ejecución del proyecto, se siguieron los pasos siguientes:

Primeramente, se basó en las normas de manipulación de material considerado infeccioso, también se tuvo en cuenta los riesgos y peligros dentro de un laboratorio, establecidos por la OMS en su “Manual de Bioseguridad en el Laboratorio”. Luego se siguieron los siguientes pasos:

- a) Identificación de las plantas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima*: Se llevaron las semillas al Herbarium Truxillense de la UNT para que realicen la especificación taxonómica. (Anexo 3).
- b) Elaboración del extracto acuoso de semillas: Se realizó la preparación de los extractos acuosos de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima*. (Anexo 4).
- c) Captación de huevos de *Ascaris lumbricoides*: Se preparó el inóculo con huevos extraídos de las hembras grávidas de *Ascaris lumbricoides*. (Anexo 5).
- d) Ensayo de Eclosión de Huevos: Se realizó la prueba de inhibición de eclosión oval de *Ascaris lumbricoides*, por medio del método EHT (Anexo 6).

### **3.6. Método de análisis de datos:**

La recolección de los datos fue a través de una ficha, después fueron procesados por medio del Software SPSS estadístico versión 25, se recurrió a la estadística descriptiva en la información obtenida para su análisis a través de la medida de tendencia central: media, que se usó para medir el promedio de la actividad antihelmíntica por efecto de los tratamientos y la medida de variabilidad: desviación estándar, con la finalidad de describir la inhibición de la eclosión en cada tratamiento. Se aplicó la estadística inferencial a través del test de student para establecer la diferencia significativa entre los dos grupos de estudio donde fueron aplicados los extractos acuosos de *Carica papaya* y *Curcubita maxima*.

### **3.7. Aspectos éticos:**

La presente investigación se elaboró respetando los códigos de ética, por tanto, toda la información consignada en esta investigación es veraz, asimismo se declara la fiabilidad en los resultados obtenidos, que no fueron cambiados ni alterados por motivo alguno, de ésta manera la investigación tiene como finalidad generar nuevos conocimientos que aporten al beneficio de la comunidad. La autora y sus asesores manifiestan no tener ningún conflicto de intereses.

## IV.RESULTADOS

**Tabla 01**

**Efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* sobre huevos de *Ascaris lumbricoides*.**

	Media	Mediana	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Rango intercuartil
<b>21 Días</b>						
EACM*	69.1	71.4	9.9	50.0	80.0	16.2
EACP**	53.7	53.9	9.6	37.5	66.7	14.5
Albendazol	100	100	0	100	100	0
Suero	—	—	—	—	—	—
<b>15 Días</b>						
EACM	56.0	56	6.8	46.4	66.7	12.0
EACP	36.9	36	2.2	34.2	40.0	4.3
Albendazol	100	100	0	100	100	0
Suero	—	—	—	—	—	—
<b>10 Días</b>						
EACM	14.8	14.7	6.7	6.1	25.9	11.9
EACP	9.9	8.8	4.7	3.5	17.2	8.0
Albendazol	100	100	0	100	100	0
Suero	—	—	—	—	—	—
<b>5 Días</b>						
EACM	4.9	3.3	4.9	0.0	13.3	9.2
EACP	3.7	3.5	3.4	0.0	9.7	6.6
Albendazol	100	100	0	100	100	0
Suero	—	—	—	—	—	—
<b>1 Día</b>						
EACM	0	0	0	0	0	0
EACP	0	0	0	0	0	0
Albendazol	100	100	0	100	100	0
Suero	—	—	—	—	—	—

FUENTE: Salida Software SPSS 25.0

\*Extracto acuoso de *Cucurbita maxima*

\*\*Extracto acuoso de *Carica Papaya*

Interpretación: de la presente tabla diremos que la media de inhibición de eclosión más alta se presentó el día 15 y 21 con el extracto acuoso de *Cucurbita maxima* en un 56 y 69,1 % respectivamente y *Carica papaya* y 53.7% en el día 21. Por otro lado, el extracto

acuoso de *Carica es eficaz* en los días 21 debido a que sobrepasa ligeramente el 50% de efectividad en el 53.7 % (figura 03 y 04). A diferencia del extracto acuoso de *Cucurbita Maxima* que es eficaz desde el día 15 con un 56 %. Es necesario considerar que el control negativo demuestra la evidencia de la no inhibición en ningún día.

Figura 01: Efecto antihelmíntico 5to Dia

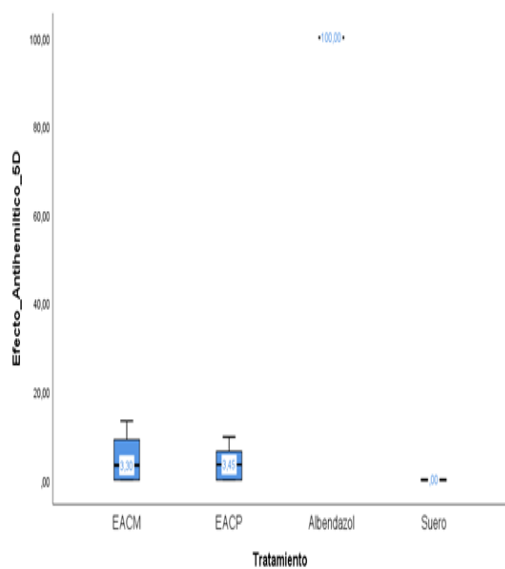


Figura 02: Efecto antihelmíntico 10mo Dia

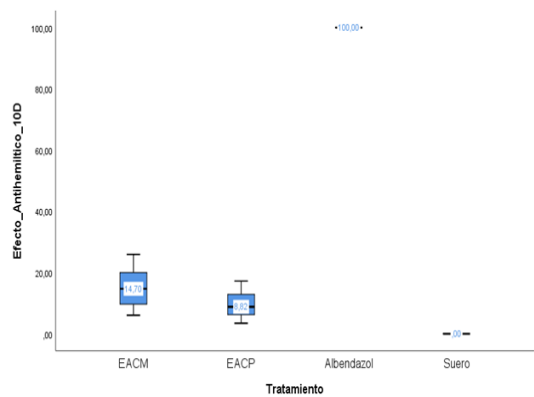


Figura 03: Efecto antihelmíntico 15vo Dia

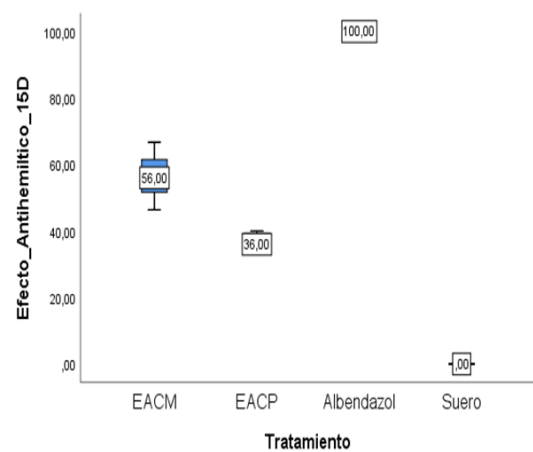
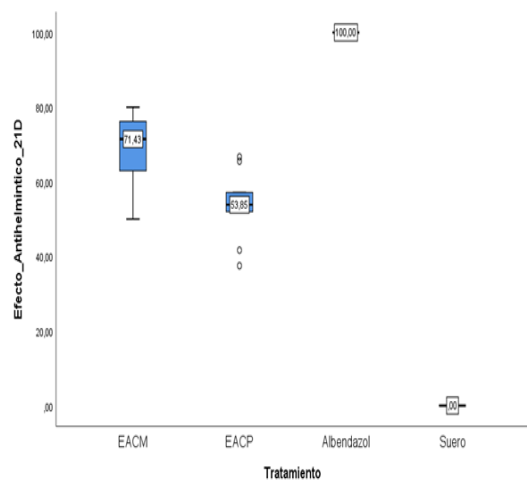


Figura 04: Efecto antihelmíntico 21vo Dia



**Tabla 02**

**Actividad antihelmíntica in vitro del extracto acuoso de semillas de *Cucurbita maxima* sobre huevos de *Ascaris lumbricoides*.**

Valor de prueba = 50						
Dia	t	gl	P	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Dia 5	-27.9	8	0.000	-45.1	-48.8	-41.4
Dia 10	-15.8	8	0.000	-35.2	-40.4	-30.1
Dia 15	2.6	8	0.030	6.0	0.8	11.2
Dia 21	5.8	8	0.000	19.1	11.4	26.7

FUENTE: Salida Software SPSS 25.0

**Interpretación:**

La T de Student demuestra la diferencia altamente significativa en el día 21 del extracto acuoso de semillas de *Cucurbita maxima* ( $p < 0.01$ ) en cuanto al efecto antihelmíntico (Intervalo de confianza del 95% de sus diferencias respecto al valor de la prueba (50%) tanto el límite superior e inferior resultaron ser positivas.)

Por otro lado, el día 15 también se encontró efecto antihelmíntico, *pero solo es significativa* ( $p = 0.03$ ) a un Intervalo de Confianza del 95% de sus diferencias son positivas, más por el contrario en los días 1,5 y 10 el efecto fue menor del 50%.

**Tabla 03**

**Actividad antihelmíntica in vitro del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* sobre huevos de *Ascaris Lumbricoides*.**

Valor de prueba = 50						
Dia	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Dia 5	-40.6	8	0.000	-46.3	-49.0	-43.7
Dia 10	-25.5	8	0.000	-40.1	-43.7	-36.5
Dia 15	-17.5	8	0.000	-13.1	-14.9	-11.4
Dia 21	1.2	8	0.277	3.7	-3.6	11.1

FUENTE: Salida Software SPSS 25.0

**Interpretación:**

Al comparar el efecto de inhibición de la *Carica papaya* sobre los huevos de *Ascaris lumbricoides* a través de la T de Student, se observó que en los días 5, 10 y 15 no alcanza o no es igual el valor establecido en el estándar, por lo que la prueba estadística indica diferencia altamente significativa ( $P=0.00$ ), mientras que en el día 21 el efecto de *Carica papaya* es similar al efecto estándar ( $p=0.277$ ).

## V. DISCUSIÓN:

*Carica papaya* y *Cucurbita maxima*, especies herbarias empleadas como tratamiento alternativo para muchas enfermedades en diversas partes del mundo, y también utilizadas como helminticidas naturales cuya propiedad se estudió en la presente investigación. La finalidad del estudio fue determinar el efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* sobre huevos de *Ascaris lumbricoides*.

Se determinó el efecto antihelmíntico del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* sobre los huevos de *Ascaris lumbricoides*, teniendo como control positivo el Albendazol y como control negativo agua destilada, se estudiaron 9 muestras para cada grupo de estudio en los días (1, 5, 10, 15 y 21) respecto al tiempo de tratamiento.

Los resultados demostraron que el efecto promedio de la inhibición más alta se presentó en los días 15 y 21 donde si existe efecto antihelmíntico de *Cucurbita maxima* en un 56% y 69,1 % y *Carica papaya* en 53, 7% el día 21, resultados que son similares a los de Jaworska A et al <sup>6</sup> (Polonia 2016) quienes estudiaron el efecto helminticida *in vitro* del concentrado acuoso de *Cucurbita pepo*. La investigación usó dos nematodos para sus ensayos en medida de 2 a 5 microgramos por mililitro de concentrado de semillas de *Cucurbita*, concluyendo que los concentrados de semillas de *Cucurbita* evidenciaron acción antihelmíntica. Asimismo, que dicha actividad era proporcional al dosificado de concentrado.

Teniendo en cuenta el promedio del porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos *Ascaris lumbricoides* el extracto acuoso de *Carica papaya*, es eficaz a los días 21 debido a que sobrepasa ligeramente el 50% de efectividad que según el Egg Hatch Test; la capacidad de detectar de manera confiable la inhibición de la eclosión es una parte crucial del manejo de la resistencia. Dado que la prueba de eclosión del huevo según estándares Egg Hatch Test y colaboradores, se considera que existe inhibición de la eclosión cuando el porcentaje de inhibición es mayor a 50%, el cual fue tomado como indicador para el presente estudio<sup>20</sup>.

La T de student demostró que el día 21 existió diferencia altamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre el efecto inhibitorio del extracto de *Cucurbita maxima* y el estándar, por lo que se acepta la hipótesis de investigación, además se demostró que desde los días 15 hasta los 21 días de tratamiento de los huevos con éste extracto, se alcanzó un porcentaje mayor al esperado de inhibición de la eclosión. Cuyos resultados son similares a Abarca D et al <sup>14</sup> (Perú 2014) un estudio transversal en el cuál, se valoró el efecto antihelmíntico de *Chenopodium ambrosioides* y *Curcubita maxima* en una población de 201 niños de nivel primario de entre 7 a 10 años. Demostraron que el extracto de *Cucurbita maxima* presentó 80% de efectividad inhibiendo la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides*. Siendo éstos resultados uno de los primeros indicadores para posteriores estudios sobre las diferentes especies de *Cucurbita* en nuestro país.

Por otro lado, según el análisis de la estadística t de student, al comparar la *Carica Papaya* con el estándar Egg Hatch Test se identificó que los días 5, 10 y 15 no se alcanzó el valor establecido, debido a esto diremos que existe una diferencia altamente significativa entre la *Carica papaya* y el estándar, mientras que en el día 21 el efecto del concentrado acuoso de semillas de *Carica papaya* es similar al estándar, alcanzando el efecto esperado dentro del límite de tiempo máximo que se en el que se produce en la eclosión dentro del huésped antes de ser infectado. De igual manera al sobrepasar el rango de porcentaje de estimación usado como indicador en el presente estudio diremos que se aceptó la hipótesis de investigación. Estos datos son similares a Marroquín M et al <sup>8</sup> (México 2017) cuyo objetivo fue estudiar los concentrados etanólico y acuoso de *Carica papaya* para valorar su acción antiparasitaria in vitro frente a *Haemonchus contortus*. Los resultados obtenidos mostraron que el concentrado etanólico presentó un 92% de acción inhibidora de eclosión oval mientras que el extracto acuoso sólo se mostró superior al 50 % (51%) en relación al efecto sobre los helmintos *Haemonchus contortus* atribuyendo las diferencias al método concentrado y al suelo.



De ésta manera según resultados obtenidos, las especies vegetales *Cucurbita maxima* y *Carica papaya*, inhiben la eclosión de huevos de *Ascaris lumbricoides* en un estudio *in vitro*. Según estudios nacionales, Coico M <sup>13</sup> (Perú 2018) el principio activo responsable es la *fitoesterolina* cuyo efecto genera una extensa destrucción del tejido tegumentario, parenquimatoso y la mesénquima, generando así la ruptura de la cápsula oval, asimismo también es importante considerar el porcentaje de concentración y a las propiedades del suelo en el que ha sido cultivado *en el caso de la Cucurbita maxima*. Por otro lado, Gomez N <sup>9</sup> (Bogotá 2015) menciona en su investigación que *Carica papaya* tiene como principio activo al *Isotiocianato de bencilo*, de la misma manera deben considerarse las propiedades del suelo en el que haya sido cultivado, en esta diferencia radica los diferentes resultados para estos estudios.

## VI.CONCLUSIONES

1. Se demostró la acción antihelmíntica *in vitro* del extracto acuoso *Carica papaya* sobre *Ascaris lumbricoides*.
2. Quedó demostrada la acción helminticida *in vitro* del extracto acuoso de *Cucurbita maxima* sobre *Ascaris lumbricoides*.
3. Ambos extractos inhiben la eclosión de huevos a los 21 días. Cada extracto tiene un efecto que sobrepasa el 50% según el Egg Hatch Test.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar estudios biofarmaceuticos, realizados en distintas concentraciones de extractos de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* con miras a desarrollar posteriores tratamientos contra infecciones por *Ascaris lumbricoides* en humanos.
2. Continuar estudios prospectivos de estos extractos acuosos de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* en tratamientos para parasitosis intestinal por *Ascaris lumbricoides*.

## REFERENCIAS

1. Organización Panamericana de la salud. Reunión regional para intensificar los esfuerzos de control de las helmintiasis transmitidas por contacto con el suelo. [Informe científico de internet] México: OPS; 2016 [ citado 19 de enero del 2020].  
Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4238.pdf>
2. World Health Organization. Trans soil, minced helminthiasis. [scientific internet report] Madrid: WHO; 2020 [cited March 12, 2020].  
Available at: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>
3. Prieto A, Auró A, Fernandez A. Use of natural medicine in the control of diseases of aquatic organisms and potentialities of use in Cuba and Mexico. Rev Esp Quimiofisiol [internet magazine] June 2015. [accessed February 10]; 8 (1): [38-49]  
Available at: <http://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v8n1/1405-888X-tip-8-01-38.pdf>
4. Uribe N. Algunas pandemias en la humanidad. Rev Salud Pública. [revista en línea] 2015 mayo. [acceso 10 de enero de 2020]; 6: [91-95]  
Disponible en [http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces\\_salud\\_publica/article/viewFile/-3541/2410](http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/viewFile/-3541/2410)
5. Aziz AR, AbouLaila MR, Aziz M, Mosaab AO, Khaled S. In vitro and in vivo anthelmintic activity of pumpkin seeds and pomegranate peels extracts against *Ascaridia galli*. Journal of Basic and Applied Sciences [revista en internet] 2018 junio. [Acceso 19 de abril de 2020]; 7(2): [231-234]

Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2314853517303918>

6. Grzybek M, Kukula-Koch W, Strachecka A, Jaworska A, Phiri AM, Paleolog J. Evaluation of Anthelmintic Activity and Composition of Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) Seed Extracts *in vitro* and *in vivo* studies. Int. J Mol Sci [revista en internet] 2016 setiembre [Acceso 3 de abril de 2020]; 17(9): [14-56]  
Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/17/9/1456/htm>
7. Meenakshisundaram A, Harikrishnan TJ, Thavasi A. Comparative *in vitro* anthelmintic evaluation of medicinal plants against gastrointestinal nematodes of sheep. Ind J. Vet & Anim Sci. Res [revista en internet]. 2016 julio - agosto [Acceso 13 de abril de 2020]; 45(4): [695-702]  
Disponible en: <http://krishiko-sh.egranth.ac.in/handle/1/5810035656>
8. Marroquín M, Higuera R, Lopez M, Mendoza R. In vitro effect of hydroalcoholic and ethanolic extracts of papaya seed (*Carica papaya*) on *Haemonchus contortus*. Rev Hundred and agriculture [online magazine] 2017 December. [accessed January 12, 2020]; 7 (1): [93–103]  
Available at: <https://repositorio.uptc.edu.co/bitstream/001/2287/1/PPS-811.pdf>
9. Gomez N. Larvicidal evaluation of the ethanol extract of the *carica papaya* seed on larvae of the fourth stage of *Aedes aegypti* under laboratory conditions. Thesis [To obtain the degree of technologist in environmental sanitation] Colombia: Universidad Nacional de Bogotá; 2015.

10. Navone G, Zonta L, Gamboa I. Phytotherapy in the control of intestinal parasites, an exploratory study with *Chenopodium ambrosioides* L. var. *Anthelminticum* in five mission communities. Rev Polibotanica [internet magazine] 2014 February. [accessed January 17, 2020]; 1 (37): 135-153  
Available at: <http://www.scielo.org.mx/pdf/polib/n37/n37a8.pdf>
11. Avila M, Vasquez A. Determinación del efecto vermífugo de semillas tratadas de *Cucúrbita* Aff. *Maxima*. Tesis [Para obtener el título de licenciatura en microbiología] Universidad de Cuenca; Ecuador 2011.
12. Bejarano Y. Efecto antiparasitario *in vitro* del extracto acuoso de semillas de *Inga edulis* y *Cucurbita maxima* sobre *Ascaris suum*. Tesis [Para obtener el título de Médico] Universidad César Vallejo; Perú 2019.
13. Coico M, Vega J. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Cucurbita moschata* Duch. "loche" *in vitro* frente a *Escherichia coli*, *Shigella* sp., *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae* y actividad antiparasitaria del extracto acuoso de *Cucurbita moschata* Duch. "loche" *in vivo* contra *Syphacia obvelata* e *Hymenolepis nana* var. *Fraterna*. Tesis [ Para obtener el título de licenciatura en microbiología] Lambayeque: Universidad Pedro Ruíz Gallo; 2018.
14. Carretero M, Papayero y papainas. Rev Herbolaria [revista en internet] 2016 enero. [acceso 17 de enero 2020]; 1(3): [8-9]  
Disponible en: <http://botplusweb.portalfarma.com/documentos/2004-/5/20/19263.pdf>
15. Abarca D. Efectividad del *Chenopodium ambrosioides* y *Cucurbita maxima* Duch para el tratamiento de parasitosis en escolares de primaria. Tesis de grado [para obtener grado académico de maestría en ciencias] Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2014.

16. Bussman C, Ashley G. Actividad antibacteriana de plantas medicinales en Perú [revista en línea] 2014 mayo. [acceso 20 de febrero del 2020]; 16(1): [93 – 103]  
Disponible en: [http://www.researchgate.net/publication/228108007\\_An-tibacterial\\_Activity\\_of\\_Medicinal\\_Plants\\_of\\_Northern\\_Peru\\_Part\\_II\\_Acti-vidad\\_antibacteriana\\_de\\_plantas\\_medicinales\\_de\\_Peru\\_-\\_Parte\\_II](http://www.researchgate.net/publication/228108007_An-tibacterial_Activity_of_Medicinal_Plants_of_Northern_Peru_Part_II_Acti-vidad_antibacteriana_de_plantas_medicinales_de_Peru_-_Parte_II)
17. Romero L, Aplicación de mapas cognitivos en el aprendizaje significativo del área de ciencia y ambiente en estudiantes del cuarto grado de educación primaria en la institución educativa privada peruano-Británico Internacional de Arequipa. Tesis [ Para obtener el grado de maestría en ciencias de la educación] Universidad Nacional San Agustín; Arequipa: 2017
18. Denices S, Fernández C, Gonzales A. Efectividad del *Chenopodium ambrosioides* y *Cucurbita maxima* duch para el tratamiento de parasitosis en escolares de primaria, ciudad de Puno-Perú. Rev Panam Salud Publica [revista en línea] 2014 enero. [acceso 17 de enero 2020]; 28(1): [36-39]  
Disponible en: [http:///C:/Users/mili/Downloads/22-40-1-SM%20\(2\).pdf](http:///C:/Users/mili/Downloads/22-40-1-SM%20(2).pdf)
19. Cruz N, Zenteno R. Functional properties of papaya seeds (*Carica papaya* L.) Health Sciences Rev [internet magazine] June 2016. [accessed January 17, 2020]; 3 (7): [48-56]  
Available at: [http://www.ecorfan.org/bolivia-/researchjournals-/Cciencia\\_de\\_la\\_Salud/vol3num7/Revista\\_Cciencia\\_de\\_la\\_Salud\\_V3\\_N7\\_7.pdf](http://www.ecorfan.org/bolivia-/researchjournals-/Cciencia_de_la_Salud/vol3num7/Revista_Cciencia_de_la_Salud_V3_N7_7.pdf)

20. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. Rev. OMS 2015; 3: 7-9.  
Disponible en: [http://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual-bioseguridad\\_laboratorio.pdf](http://www.who.int/topics/medical_waste/manual-bioseguridad_laboratorio.pdf)
21. Carrol K, Morse S, Mietznar T, Miller S. Medical Microbiology of Jawetz, Melnick y Adelberg. Vol 3. 27th ed Mexico, Ed McGraw-Hill; 2016
22. Pandey, A. 2014. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2 (5): 115-119



## ANEXOS

### ANEXO 1

#### DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Fórmula estadística:

$$n = \frac{W - W^2 \cdot (Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha})^2}{W^2}$$

Así:

- n= Número mínimo de ensayos que a ser realizados en una investigación.
- $Z_{\alpha}$ = Cifra del nivel de confianza otorgado  $Z_{\alpha} = 1.96$
- $Z_{\beta}$ = Cifra de potencia otorgada a la prueba.  $Z_{\beta} = 0.842$
- W= Eficacia mínima esperada. W = 0.80 (80%)

$$n = \frac{0.80 - 0.80^2 (0.842 + 1,4 \times 1.96)^2}{0.80^2}$$

$$n = 9$$

## ANEXO 2

## FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

[illegible]

### ANEXO 3 - Operalización de las variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN
V.D. Efecto antihelmíntico sobre huevos de <i>Ascaris lumbricoides</i> .	Efecto ejercido por un agente antihelmíntico con la finalidad de limitar, inhibir o erradicar helmintos en un momento establecido con una dosis determinada.	Se considerará efectivo si la inhibición de la eclosión fuere mayor del 50%.	Efecto helminticida.	Cualitativa nominal.
V.I. Extracto acuoso de semillas de <i>Carica papaya</i> y <i>Cucurbita maxima</i> sobre huevos de <i>Ascaris lumbricoides</i> .	Sustancia fitoquímica obtenida de las gramíneas de <i>Carica papaya</i> y <i>Cucurbita maxima</i> utilizando H <sub>2</sub> O de solvente.	Las concentraciones del extracto de gramíneas de <i>Carica papaya</i> y <i>Cucurbita maxima</i> serán al 183 y 168 mg/ml	Hubo eclosión.  No hubo eclosión.	Cuantitativa de intervalo

## ANEXO 4

### ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE SEMILLAS

Llevada a cabo de la manera siguiente:

1. Se obtendrán frescas semillas de *Carica papaya* y *Cucurbita maxima* del Mercado de abasto La Hermelinda de Trujillo, ubicado en la región La Libertad, 1 kg por cada especie, luego se procederá a trasladarlas a la unidad de microbiología de la UCV Trujillo.
2. Serán seleccionadas aquellas gramíneas en óptimo estado, serán lavadas en agua con cloro y llevadas a un horno a cuarenta grados centígrados por 3 días.
3. Las gramíneas que hayan secado serán trituradas por un molinillo previamente esterilizado hasta obtener partículas menores de cinco mm, luego serán almacenadas en contenedores oscuros sellados herméticamente.
4. Para obtener el extracto se usará el método de decocción, se verterá en un matriz previamente esterilizado de 250ml, 20g de la semilla molida, luego se aplicará 100 ml de agua destilada sobre las semillas molidas para después calentarla hasta el punto de ebullición durante 15 min. Finalmente permanecerá en reposo hasta enfriarse.
5. El decocto será filtrado primero usando una gasa esterilizada, luego por el papel filtro Whatman n°41. Este líquido que haya sido obtenido se mantendrá congelado en contenedores ámbar de vidrio esterilizados, para posteriormente utilizarlos.

## **ANEXO 5**

### **CAPTACIÓN DE HUEVOS DE *Ascaris lumbricoides***

Se realizará de la siguiente manera:

1. Sobre las Placas Petri con solvente de Buffer Fosfato pH 7.2 serán colocadas las hembras *Ascaris lumbricoides* que hayan alcanzado adultez a las que cortarán de forma longitudinal a lo largo de su curvatura mayor, empleando un bisturí.
2. Se procederá a extraer los úteros de las hembras para luego ser triturados por una varilla de vidrio esterilizada, seguidamente será filtrada por una gasa esterilizada.
3. Luego verterán diez ml de éste filtrado en tubos Falcon de quince ml, para ser centrifugado a 5000 rpm por espacio de tres minutos, seguidamente serán descartado el sobrenadante en cantidad de cinco ml.
4. Los tubos serán agitados para hallar el sedimento, este será ajustado a 50 huevos/100µl observándolos por el microscopio óptico.

## ANEXO 6

### ENSAYO DE ECLOSIÓN DE HUEVOS (EGG HATCH TEST - EHT)

Se procederá tomando en cuenta los pasos siguientes:

1. En cada uno de los tubos Eppendorf 2ml serán colocados 200ul de la suspensión de huevos.
2. Serán aplicados los concentrados acuosos, Albendazol y agua destilada de la forma siguiente:
  - Ensayos: 200 ul de concentrado de *Carica papaya* y *Cucurbita Maxima* a 168 y 183 mg por ml respectivamente.Cada uno de los tratamientos serán repetidos 9 veces.
3. Los huevos que tengan acción antihelmíntica en estudio, serán incubados a  $27^{\circ}\text{C} \pm 2$  por espacio de 2, 4, 7, 14, 21 hasta 28 días.
4. Posteriormente se añadirá solución de Lugol una gota para no permitir la eclosión oval.
5. Serán llevados al microscopio a 4X para ser contado en cada tubo la totalidad de huevos y larvas de la primera etapa.

## ANEXO 7



**San José**  
**LABORATORIO CLÍNICO**  
*Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud*

**CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO**

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha cedido *ad honorem* sus instalaciones, en donde YURIDIA YANECI MÉNDEZ MUÑOZ, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antihelmíntico *In vitro* del extracto acuoso de semillas de *Carica papaya* y *Curcubita maxima* sobre *Ascaris lumbricoides*", durante los días 10 al 31 de octubre de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 10 días del mes de noviembre de 2020.



**José Luis Callo Quevedo**  
**ECÓLOGO - MICROBIOLOGO**  
**C.B.P. 6201**

## ANEXO 8

